

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 革新的がん医療実用化研究事業
(英語) Practical Research for Innovative Cancer Control
- 研究開発課題名： (日本語) 慢性リンパ球性白血病およびB細胞性リンパ腫における
IRAK-M分子の機能解明および革新的標的治療法の確立
(英語) Elucidation of the function of IRAK-M and the establishment of novel
therapeutic approach targeting IRAK-M in human B cell malignancies
- 研究開発担当者 (日本語) 大学院医学研究院 助教 菊繁 吉謙
所属 役職 氏名： (英語) Kyushu University, assistant professor, Yoshikane Kikushige
- 実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日
- 分担研究 (日本語) CLL/B細胞性リンパ種検体集積および実験データ解析
開発課題名： (英語) Experimental data analysis
研究開発分担者 (日本語) 赤司 浩一
所属 役職 氏名： (英語) Kyushu University, professor, Koichi Akashi
- 分担研究 (日本語) CLL/B細胞性リンパ種検体集積および臨床情報解析
開発課題名： (英語) Clinical data analysis of the patients with CLL/B cell malignancies
研究開発分担者 (日本語) 宮本 敏浩
所属 役職 氏名： (英語) Kyushu University, associate professor, Toshihiro Miyamoto

II. 成果の概要（総括研究報告）

和文

我々は、定常状態ではマクロファージ系細胞にのみ限局して発現する IRAK-M 分子がヒト慢性リンパ球性白血病(CLL)において異所性に発現することを見出した。

本年度は当初の研究計画に基づき解析を遂行し、当初の目標を上回る症例数の CLL の IRAK-M 発現解析を遂行することができた。WES によるタンパク定量系以外に細胞内フローサイトメトリーによる IRAK-M 分子の発現定量系を確立し、複数の CLL 症例において IRAK-M 分子の高発現を定量的に解析した。今後はこの細胞内フローサイトメトリーによる定量系を用いて、CLL 以外の B 細胞性腫瘍における IRAK-M 発現を定量していく予定である。

また、我々は CLL 細胞における異所性 IRAK-M 分子高発現の分子メカニズムの解明を試みた。その結果、CLL 細胞において B 細胞レセプター (BCR) シグナルと IRAK-M の遺伝子発現制御機構の関連性をプロモーター解析の結果から見出した。すなわち、CLL 細胞における BCR シグナルが直接的に IRAK-M 分子の発現誘導に関与している知見を得ることができた。今後さらに詳細な解析を継続する予定である。

さらに本年度のもう一つの研究計画として、CLL 以外の成熟 B 細胞性腫瘍についても IRAK-M 分子の異所性発現について上記、細胞内フローサイトメトリーによる定量系を用いて解析を行った。その結果、IRAK-M の発現が正常 B 細胞と同様にほとんど認められない成熟 B 細胞性腫瘍と CLL ほどではないが一定の頻度で IRAK-M を異所性に発現する腫瘍があることを見出した。すなわち、病理学的な成熟 B 細胞性腫瘍の分類ごとに IRAK-M 分子の発現に差があることが判明した。現在はこの IRAK-M 分子発現の差を規定するメカニズムについて上記、BCR シグナルとの関連性に着目して研究を遂行している。

平成 29 年度以降は IRAK-M 分子の CLL 細胞あるいは B 細胞性腫瘍における機能解析を中心に取り組む予定としている。

英文

We identified the ectopic high expression of IRAK-M, originally identified as a monocyte/macrophage specific molecule, in chronic lymphocytic leukemia cells through this study. We confirmed that IRAK-M is highly expressed in primary CLL cells, but not in the normal B cells from healthy donors, suggesting that the high expression of IRAK-M is specific to CLL cells.

We performed the expression analysis of IRAK-M in primary CLL cells. To quantify the IRAK-M protein expression level, we established the intracellular IRAK-M analysis using FCM. Using this method, we succeeded in quantification of IRAK-M expression level in many primary CLL cases. We plan to expand the quantification of IRAK-M in both CLL cells and other types of B cell malignancies by employing the intracellular FCM analysis system.

In addition to the analysis of ectopic expression of IRAK-M in human B cell

malignancies, we also tried to clarify the molecular machineries of ectopic high expression of IRAK-M in CLL cells. Through the promoter analysis, we found the association of IRAK-M expression and B cell receptor (BCR) signaling pathway in primary CLL cells.

Furthermore, we expanded the quantification of IRAK-M in other types of B cell malignancies by employing the intracellular FCM analysis system, and found that some of the mature B cell malignancies ectopically expressed high IRAK-M same as in primary CLL cases. Therefore, we try to clarify common molecular machineries of high IRAK-M expression in human B cell malignancies.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 3 件）

1. K. Miyawaki, H. Iwasaki, T. Jiromaru, H. Kusumoto, A. Yurino, T. Sugio, Y. Uehara, J. Odawara, S. Daitoku, Y. Kunisaki, Y. Mori, Y. Arinobu, H. Tsuzuki, **Y. Kikushige**, T. Iino, K. Kato, K. Takenaka, T. Miyamoto, T. Maeda, K. Akashi, Identification of unipotent megakaryocyte progenitors in human hematopoiesis. *Blood*, in press (2017).
2. Tochigi, T., Aoki, T., ***Kikushige, Y.**, Kamimura, T., Ito, Y., Shima, T., Yamauchi, T., Mori, Y., Yoshimoto, G., Kamezaki, K., *et al.* (2017). Mobilization of human immature hematopoietic progenitors through combinatory use of bortezomib and immunomodulatory drugs. *Int J Hematol.* 105 423-432 *corresponding author
3. Yurino, A., Takenaka, K., Yamauchi, T., Nunomura, T., Uehara, Y., Jinnouchi, F., Miyawaki, K., **Kikushige, Y.**, Kato, K., Miyamoto, T., *et al.* (2016). Enhanced Reconstitution of Human Erythropoiesis and Thrombopoiesis in an Immunodeficient Mouse Model with Kit(Wv) Mutations. *Stem Cell Reports* 7, 425-438.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. “IRAK-M is a key molecule in pathogenesis of chronic lymphocytic leukemia”口頭, **菊繁吉謙**, 日本血液学会総会, 2016/11/11, 国内
2. “慢性リンパ球性白血病の病態形成において中心的役割を担う鍵分子 IRAK-3 の同定”口頭, **菊繁吉謙**, 日本臨床分子医学会 2017/4/14, 国内
3. “A TIM-3/Gal-9 autocrine stimulatory loop drives self-renewal of human myeloid leukemia stem cells and leukemic progression” 口頭, **菊繁吉謙**, 45th Annual Scientific Meeting of International Society of Experimental Hematology (ISEH), 28th, August, 2016, San Diego, USA

4. “TIM-3/galectin-9 autocrine loop enhances self-renewal capacity of human leukemic stem cells through mimicking canonical Wnt signaling” 口頭, 菊繁吉謙, 2017 US-Japan Symposium on Normal/Malignant Hematopoiesis and Novel Therapies for Hematological Malignancies, 22th, February, 2017, Hawaii, USA

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
該当なし

(4) 特許出願
該当なし